

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
22 de Enero de 2004 (22.01.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2004/007706 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C12N 9/16,
15/55, 15/82, C12Q 1/42

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2003/000363

(22) Fecha de presentación internacional:
15 de Julio de 2003 (15.07.2003)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200201647 15 de Julio de 2002 (15.07.2002) ES
P200202673
20 de Noviembre de 2002 (20.11.2002) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
UNIVERSIDAD PUBLICA DE NAVARRA [ES/ES];
Campus Arrosadía s/n OTRI, Edificio El Sario, E-31006
Pamplona - Navarra (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **MUÑOZ
PEREZ, Francisco, José [ES/ES];** Campus Arrosadía
s/n OTRI, Edificio El Sario, E-31006 Pamplona - Navarra

(ES). **RODRIGUEZ LOPEZ, Milagros [ES/ES];** Cam-
pus Arrosadía s/n OTRI, Edificio El Sario, E-31006
Pamplona - Navarra (ES). **BAROJA FERNANDEZ,
Miren, Edurne [ES/ES];** Campus Arrosadía s/n OTRI,
Edificio El Sario, E-31006 Pamplona - Navarra (ES).
POZUETA ROMERO, Francisco, Javier [ES/ES];
Campus Arrosadía s/n OTRI, Edificio El Sario, E-31006
Pamplona - Navarra (ES). **MITSUI, Toshiaki [JP/JP];**
Niigata University, 8050 Ikarashi-2, Niigata 950-2181
(JP). **NANJO, Yohei [JP/JP];** Niigata University, 8050
Ikarashi-2, Niigata, Niigata 950-2181 (JP).

(74) Mandatario: **DE ELZABURU, Alberto; Miguel Angel,**
21, 28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (nacional): AE, AG, AI., AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (regional): patente ARIPO (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente
euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: **PLANT NUCLEOTIDE-SUGAR PYROPHOSPHATASE/PHOSPHODIESTERASE (NPPASE). METHOD OF OB-
TAINING SAME AND USE OF SAME IN THE PRODUCTION OF ASSAY DEVICES AND IN THE PRODUCTION OF TRANS-
GENIC PLANTS**

(54) Título: **AZUCAR-NUCLEÓTIDO PIROFOSFATASA/FOSFODIESTERASA (NPPASA) VEGETAL. PROCEDIMIENTO
DE OBTENCIÓN. USO EN LA FABRICACIÓN DE DISPOSITIVOS DE ENSAYO Y SU UTILIZACIÓN EN LA OBTENCIÓN
DE PLANTAS TRANSGÉNICAS**

(57) **Abstract:** The invention relates to NPPase which is an enzyme that catalyses the hydrolysis of a wide range of small molecules with phosphosulphate and phosphodiester bonds, notably ADPG (adenosine diphosphate glucose) and APS (adenosine 5'phosphosulphate). The enzyme obtained from plant extracts is used in assay devices in order to (i) determine nucleoside-diphosphate sugar levels which are based on either the sugar-1-phosphate released or on the nucleoside monophosphate products, both formed by the reaction catalysed by the NPPase, and (ii) detect sulphonucleotides such as 3'-phosphoadenosine 5'phosphosulphate (PAPS) and APS. Moreover, the invention relates to the amino acid sequence of the enzyme and to the nucleotide sequence of a complete cDNA and another incomplete cDNA. The invention further relates to the production of transgenic plants which overexpress NPPase and which possess a high sugar content, a low starch content and cell wall polysaccharides and a good resistance to high salt concentrations and high temperatures.

(57) **Resumen:** La NPPasa es un enzima que cataliza la hidrólisis de una amplia gama de pequeñas moléculas con enlaces fosfo-
diéster y fosfosulfato, entre las que destaca la ADPG (adenosina difosfato glucosa) y el APS (adenosina 5'fosfosulfato). El enzima
obtenido a partir de extractos vegetales se utiliza en dispositivos de ensayo para determinar niveles de azúcares-nucleósido-difosfato,
basados bien en el azúcar-1-fosfato liberado, bien en el nucleósido monofosfato productos formados ambos por la reacción catalizada
por la NPPasa, así como la detección de sulfonucleótidos como el 3'-fosfoadenosina 5'fosfosulfato (PAPS) y el APS. Asimismo se
describe la secuencia aminoacídica del enzima, así como la secuencia nucleotídica de un cDNA completo y otro incompleto. Por
último se describe la obtención de plantas transgénicas que sobre-expresen NPPasa y que poseen un contenido alto en azúcares, bajo
contenido en almidón y polisacáridos de pared celular y una alta resistencia a altas concentraciones de sales y alta temperatura.



ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— *antes de la expiración del plazo para modificar las reivin-
dicaciones y para ser republicada si se reciben modifica-
ciones*

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional*

*Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.*